

Untersuchungen über das Vorkommen von
Mykobakterien im Kot gesunder und wegen
Tuberkulose beanstandeter Schlachtschweine

Karin Petersen

1970



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Mikrobiologie und Infektions-
krankheiten der Tiere der Universität München

(Vorstand: Professor Dr. A. Mayr)

UNTERSUCHUNGEN ÜBER DAS VORKOMMEN VON MYKO-
BAKTERIEN IM KOT GESUNDER UND WEGEN
TUBERKULOSE BEANSTANDETER SCHLACHTSCHWEINE

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Karin Petersen
aus
Flensburg

München 1970

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. I. Gylstorff
Referent: Professor Dr. Th. Schliesser
Korreferent: Professor Dr. A. Mayr

Tag der Promotion: 9. Juli 1970



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
I. EINLEITUNG	1
II. LITERATUR	2
A. Vorkommen von atypischen Mykobakterien in der Natur	2
B. Vorkommen von Mykobakterien im Kot von Tieren	5
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	8
A. Material und Methodik	8
B. Untersuchungsergebnisse	13
1. Isolierung der Mykobakterien	13
2. Differenzierung	18
IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE	26
A. Vorkommen von Mykobakterien im Kot gesunder und wegen Tuberkulose beanstandeter Schlachtschweine	26
B. Zur Frage des Zusammenhangs zwischen Lymphknotenveränderungen und Ausscheidung im Kot	29
V. ZUSAMMENFASSUNG	31
VI. LITERATURVERZEICHNIS	34

Lebenslauf

I. EINLEITUNG

Die Zahl der Beschreibung von Krankheitsfällen, in denen bei Menschen sogenannte atypische Mykobakterien gefunden wurden, hat in den letzten Jahren zugenommen. Diese Keime besitzen zwar für Mensch und Säugetier keine ausgesprochene Erregernatur. Sie können jedoch mitunter Veränderungen im Organismus hervorrufen, die von denen einer echten Tuberkulose nicht zu unterscheiden sind. Beim Tier verursachen die atypischen Mykobakterien einerseits erheblichen Schaden durch positive Tuberkulinreaktionen und andererseits durch tuberkuloseähnliche Veränderungen in Lymphknoten und Organen von Schlachttieren. Die Frage nach den eigentlichen Reservoiren dieser Keime taucht immer wieder auf. Infizierte Tiere spielen als Ansteckungsquelle für den Menschen im allgemeinen keine große Rolle. Vielmehr ist anzunehmen, daß Mensch und Tier die Keime aus ihrer Umgebung aufnehmen. In letzter Zeit wurden aus Rinderkot und aus Milch beträchtliche Mengen von atypischen Mykobakterien isoliert.

Es war meine Aufgabe, den Kot gesunder und wegen Tuberkulose beanstandeter Schlachtschweine auf das Vorkommen von Mykobakterien zu untersuchen. Gleichzeitig sollte die Frage untersucht werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Vorkommen von atypischen Mykobakterien im Kot und tuberkulösen Veränderungen in den Darmlymphknoten besteht.

II. LITERATUR

A. Vorkommen von atypischen Mykobakterien in der Natur

Alle säurefesten Stäbchen, die sich anders verhalten als die Erreger der Menschen- und Säugetiertuberkulose, werden in der Gruppe der "atypischen" Mykobakterien zusammengefaßt.

Mykobakterien, die nicht die Pathogenität der Tuberkuloseerreger zeigten, sind schon bald nach der Entdeckung des Tuberkelbakteriums durch Robert Koch im Jahre 1882 gefunden worden. Es zeigte sich, daß diese apathogenen Mykobakterien in der Natur weit verbreitet sind. Nach Untersuchungen von H e r r (19) und E i c h b a u m (15) ist der Erdboden als Hauptfundgrube anzusehen. H a a g (17) konnte in Erdproben zahlreiche Stämme kulturell nachweisen. Bei Untersuchungen von Bodenproben wurden apathogene Mykobakterien auch von T h o m s o n (40) sowie G o r d o n (16) in großer Anzahl gefunden. Die Nachforschungen dehnten sich immer mehr auf alle Objekte aus, die der Berührung mit dem Erdboden ausgesetzt waren. So wurden säurefeste Saprophyten im Straßenstaub, in Schlamm, Wasser, Tümpeln und Pfützen, im Trinkwasser und im Inneren von Wasserleitungen und auch in Abwasserproben nachgewiesen, H a a g (17), E i c h b a u m (15), U r a b a (42). Angesichts der Verbreitung in Boden und Wasser wurden sie auch auf Gras, Heu, Stroh und an Runkelrüben festgestellt M o e l l e r (28), W e b e r und T a u t e (43). Entsprechend häufig werden die säurefesten Saprophyten auch in der Umgebung von Tier und Mensch gefunden. Von Futterkisten, Stallstaub oder Einstreu aus gelangen diese Keime dabei zwangsläufig auf die Körperoberfläche oder auf alimentärem oder aerogenem Wege in den Körper.

Wie die Zunahme der Funde von atypischen Mykobakterienarten bei menschlichen Erkrankungen in aller Welt zeigt, gelangen diese Keime immer mehr in das Blickfeld wissen-

schaftlichen Interesses. In erster Linie ist die zunehmende Häufigkeit des Vorkommens von atypischen Mykobakterien allerdings eine Folge der erfolgreichen Bekämpfung der Erreger der Menschen- und Säugetiertuberkulose. Aufschlüsse über das Vorkommen dieser verschiedenen atypischen Mykobakterienarten lassen sich sicher aus der Verbreitung dieser Keime bei Tieren gewinnen.

R u n y o n (32,33) teilt die atypischen Mykobakterien aufgrund ihrer unterschiedlichen Wachstumsgeschwindigkeit und Pigmentbildung in 4 Gruppen ein.

Gruppe I: Photochromogene Mykobakterien

Typischer Vertreter dieser Gruppe ist das Mycobacterium kansasii. Es besitzt nach K o v a c s (23) unter den atypischen Mykobakterien die größte Pathogenität für den Menschen. M.kansasii wurde von S c h l i e s s e r (34) aus einem tuberkulös veränderten Lungenlymphknoten beim Rind, aus der Leber eines Schweines und aus den Organen eines Rehbockes isoliert. Infektionsversuche von S c h l i e s s e r und S c h u h w e r k (34) an Kälbern zeigten, daß die Virulenz von M.kansasii für Tiere nicht groß ist. Photochromogene Mykobakterien kommen auch bei Fischen vor. A r o n s o n (2) bezeichnete sie als M.marinum. Diese Art ist wahrscheinlich identisch mit M.balnei, welches bei Schwimmbadinfektionen des Menschen gefunden wurde, N o r d é n und L i n e l l (30).

Gruppe II: Skotochromogene Mykobakterien

Diese Keime sind in der Natur weit verbreitet. Sie kommen in Wasser, Staub und im Erdboden vor. S c h l i e s s e r (38) fand sie wiederholt im Stallstaub, in Futtertrögen, auf der Körperoberfläche von Rindern und in roher Milch. Nach B ö n i c k e (13) gehören die skotochromogenen Mykobakterien mehreren Species an. Es kann vorkommen, daß diese ubiquitär vorkommenden Keime ausnahmsweise auch in Organe gelangen und sich hier begrenzt vermehren. S c h l i e s s e r (38) hat in veränderten Kehlgang-lymphknoten von Schlachtschweinen in 10% der Fälle skotochromogene Mykobakterien festgestellt. Die Schweine waren

deswegen bedingt tauglich beurteilt worden. Demselben Autor (34) gelangen auch vereinzelte Isolierungen aus veränderten Organen von Hund und Katze. Eine Ansteckungsmöglichkeit ergibt sich kaum aus solchen Infektionen, da eine Keimausscheidung nicht oder nicht nennenswert stattfindet.

Gruppe III: Nonphotochromogene Mykobakterien

Man unterscheidet innerhalb dieser Gruppe die "echten" Geflügeltuberkulosebakterien mit voller Virulenz für Hühnervögel, (*M. avium*), und die "aviumähnlichen" Mykobakterien oder Keime vom Battey-Typ, deren Virulenz für Hühner abgeschwächt ist oder ganz fehlt.

M. avium ist in erster Linie an die Hühner als Standort gebunden. Das tuberkulöse Huhn ist immer noch die wichtigste Ansteckungsquelle für das Tier und vereinzelt auch für den Menschen. Die von infizierten Hühnern und Schweinen ausgeschiedenen Geflügeltuberkulosebakterien gelangen in den Boden von Ausläufen, Gärten und Wiesen, wo sie unter Umständen über Jahre hinweg infektionstüchtig bleiben und sogar angereichert werden können. Dieses "Bodenreservoir" von Mykobakterien gilt auch als eine der Ansteckungsquellen des Menschen mit den sogenannten "atypischen" Mykobakterien. S c h l i e s s e r (37)

Die "aviumähnlichen" Mykobakterien werden vor allem dann bei Haustieren angetroffen, wenn Ansteckungen mit anderen Mykobakterien wegfallen, in Gebieten also, in denen die Rinderbestände saniert sind, und in denen das Huhn keine Infektionsquelle darstellt. Diese Keime sind anscheinend in der Natur verbreitet. Sie wurden häufig aus Boden- und Staubproben isoliert. K o v a c s (23) fand solche schwach hühnervirulenten Stämme in erkrankten menschlichen Organen und in Lymphknoten von Schweinen. K u b i c a und Mit., USA (24) fand ähnliche Keime in Boden und Wasser.

B ö n i c k e (13), K ä p p l e r (21) und M e i s s n e r (25,26) beschrieben Isolierungen bei menschlichen Erkrankungen. Auch bei Rindern, Pferden, Hunden und Katzen wurden sie festgestellt. Im Fichtenholz-Sägemehl, das als

Einstreu für Schweine diente, wurde ein solcher Stamm von K a u k e r und Z e t t l (22) gefunden.

H a r t w i g k (18) konnte einen Stamm mit verminderter Hühnervirulenz bei einem tuberkulösen Huhn nachweisen.

Da es immer wieder vorkommt, daß in Schweinemast- oder -haltungsbetrieben Tuberkulose ohne Kontakt zu tuberkulösen Hühnern festgestellt wird, nahmen M e y n und S c h l i e s s e r (27) an, daß solche Mykobakterien unter Umständen ubiquitär verbreitet sind, und daß Schweine sie beim Wühlen in der Erde aufnehmen. Dieselben Autoren (27) fanden bei Schweinen unter 64 auf Hühnervirulenz geprüften Stämmen 3 virulenzschwache.

In Europa ist aber zur Zeit die Geflügeltuberkulose noch derart verbreitet, daß hier die Gruppe der "aviumähnlichen" Mykobakterien mit herabgesetzter Hühnervirulenz bisher nur relativ selten vorkommen dürfte.

Gruppe IV: Schnellwachsende Mykobakterien

Diese Keime sind in der Regel Saprophyten. Sie kommen in der Umgebung von Mensch und Tier immer vor. Man findet sie in Trinkwasser, Futter, auf der Körperoberfläche und auf den Schleimhäuten als harmlose Begleit- und Verunreinigungskeime, jedoch können einzelne Arten manchmal auch bei Mensch und Tier Organveränderungen hervorrufen. M e y n und S c h l i e s s e r (27) fanden sie häufiger in veränderten Kehlgangslymphknoten von Schweinen. In diese Gruppe gehören M.phlei, M.smegmatis, M.fortuitum und andere Arten. U n e r t l (41) konnte neuerdings 94 Mykobakterienstämmen aus 572 auswertbaren Rohmilchproben isolieren. Von 94 Stämmen gehörten 7 zur Gruppe II und 87 zur Gruppe IV nach Runyon.

B. Vorkommen von Mykobakterien im Kot von Tieren

Tiere haben praktisch dauernd Gelegenheit, säurefeste Saprophyten mit dem Futter aufzunehmen. Man findet deshalb diese Keime auch mehr oder weniger regelmäßig im Kot der Haustiere.

O l t (31) entdeckte bereits im Jahre 1892 Mykobakterien im Rinderkot, die sich später als identisch mit den in der Butter vorkommenden säurefesten Stäbchen erwiesen. O l t (31) führte als erster das Vorkommen der Mykobakterien in Milch und Butter auf Verunreinigung mit Kot zurück.

B e r t a n i (4) konnte mit einer neuen Technik der Kotuntersuchung säurefeste Bakterien im Kot von Schwein, Pferd, Taube und Rind nachweisen. H o e b e l (20) fand 1922 im Kot von Hunden säurefeste Stäbchen. N e u b a u e r (29) züchtete 1953 aus dem Kot von 41 Schafen 45 Stämme säure-alkoholfester Bakterien, darunter 24 mal *M.phlei*, 5 mal *M.lacticola* und 7 mal *M.ranae* oder *M.thamnopheos*. A l b e r t (1) konnte 1956 aus Kotproben von 51 Rindern 19 Stämme säurefester Bakterien isolieren, darunter 9 mal *M.phlei*, 1 mal *M.lacticola* und 4 mal *M.ranae* oder *M.thamnopheos*.

In neuester Zeit wurde von B e e r w e r t h (3) für die Züchtung von Mykobakterien aus dem Kot der Haustiere ein neues Vorbehandlungsverfahren entwickelt. Mit Hilfe dieses Verfahrens, einer kombinierten Laugen- und Säurenbehandlung konnte die störende Begleitflora auf ein Mindestmaß zurückgedrängt werden. Bei insgesamt 1130 Kulturversuchen lagen nur 15 (= 1,3%) Totalausfälle vor. Von 514 Schweinekotproben fielen nur 2 (= 0,4%) total aus. Mykobakterien wurden gefunden:

In 345	von 401 Rinderkotproben,	(= 86,0%),
in 16	von 52 Schafkotproben,	(= 30,8%),
in 84	von 150 Pferdekotproben	(= 56,0%),
in 41	von 512 Schweinekotproben,	(= 8,0%).

81,1% der Mykobakterien gehörten zur Gruppe II, 7,5% zur Gruppe III und 11,4% zur Gruppe IV nach Runyon.

In zwei Fällen wurde *M.avium* in Schweinekotproben gefunden. Nur bei einem der beiden untersuchten Schweine lag eine Tuberkulose der Darmlymphknoten vor. B e e r w e r t h (3) läßt die Frage offen, ob es sich bei der Ausscheidung nur um eine Passage oral aufgenommener *M.avium*-Keime oder um eine Ausscheidung nach echter Infektion handelt. Auch im letzten Fall wird allerdings nur eine sehr kurzdauernde

Ausscheidung angenommen. B e e r w e r t h (3) isolierte nämlich aus 42 Kotproben von tuberkulösen Schweinen nur 1 mal Geflügeltuberkulosebakterien.

Beachtlich ist der verhältnismäßig häufige Fund von Mykobakterien der Gruppe II.

B r ü h n (14) bestimmte 128 der von B e e r w e r t h (3) aus dem Rinderkot isolierten Mykobakterienstämme näher.

Er fand:

- 61 skotochromogene Stämme der Gruppe II,
- 8 Stämme der Gruppe III und
- 53 schnellwachsende Stämme der Gruppe IV. nach Runyon,
darunter 19 mal *M.phlei*, 15 mal *M.smegmatis*,
12 mal *M.vaccae*, 2 mal *M.diernhoferi*, 2 mal *M.fortuitum*,
3 mal *M.thamnophaeos* und 4 mal nicht näher zu differenzierende Mischkulturen.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methodik

1. Material

Vom 12. 11. 1968 bis zum 21. 10. 1969 wurden am Schlachthof München 356 Kotproben von geschlachteten Schweinen entnommen. 230 dieser Proben stammten von gesunden Schweinen, 126 Proben kamen von wegen Tuberkulose beanstandeten Schweinen. Bei den Beanstandungen handelte es sich in 113 Fällen um tuberkuloseähnliche Veränderungen in den Kopf- oder Darmlymphknoten, in 12 Fällen fanden sich solche Veränderungen auch in Leber, Milz oder Lunge. Die benötigten Kotmengen wurden aus dem Mastdarm entnommen, in sterile Gläser gefüllt und am selben Tag auf das Vorhandensein von Mykobakterien untersucht. Für die Züchtung der Mykobakterien aus dem Kotmaterial wurde ausschließlich der Löwenstein-Jensen-Eiernährboden (Hersteller des Grundsubstrates: Baltimore Biological Laboratory: Baltimore, Maryland, USA) verwendet. Von jeder Kotprobe wurde Material auf 4 Nährbodenröhrchen überimpft.

2. Untersuchungsmethode

a. Kulturelle Isolierung

Die Vorbehandlung der Kotproben zur Abtötung der Begleitbakterien erfolgte nach dem Verfahren von B e e r w e r t h (3):

5 g Kot wurden im Mörser mit etwas Seesand verrieben, mit 50 ml 4%iger NaOH versetzt und gut durchmischt. Nach 10 Minuten Stehenlassen wurde der Überstand durch eine doppelte Lage Verbandmull abgossen und bei 3000 Umdrehungen in der Minute 15 Minuten lang zentrifugiert. Danach wurde der Überstand abgossen, der Bodensatz aufgerührt, mit der 20fachen Menge 5%iger Oxalsäure versetzt, gut durchmischt und 15 Minuten stehengelassen. Hierauf wurde 15 Minuten lang bei

3000 U/min. zentrifugiert und das saure Sediment sofort auf 4 Röhrchen mit Löwenstein-Jensen-Nährboden ausgestrichen. Der Oxalsäure war zur weiteren Keimhemmung 0,1% Malachitgrün zugesetzt worden.

Die beimpften Röhrchen wurden im Brutschrank bei 37°C bebrütet und nach einer Woche und in den folgenden sechs Wochen alle drei bis vier Tage kontrolliert.

b. Mikroskopische Beurteilung

Jede positive oder verdächtige Kultur wurde mikroskopisch auf das Vorhandensein von Mykobakterien untersucht. Benutzt wurde die Spezialfärbung nach Z i e h l - N e e l s e n.

c. Differenzierung der Mykobakterien

Zur groben Differenzierung der auf Subkulturen angelegten Stämme wurden folgende Eigenschaften untersucht:

aa. Kulturmorphologische Eigenschaften

1. Wachstum und Wachstumsgeschwindigkeit bei Temperaturen von 22°C, 37°C und 45°C auf Löwenstein-Jensen-Nährboden.
2. Farbe und Wuchsform bei den drei angegebenen Temperaturen.
3. Farbstoffbildung bei Wachstum im Dunkeln, im Dunkeln nach kurzfristiger Lichteinwirkung und im Hellen.
4. Wachstum auf Glycerinagar und Blutagar

bb. Biochemische Eigenschaften

1. Amidase-Aktivität (Untersuchung mit Hilfe der "Amid-Reihe" nach B ö n i c k e (7,8,9,10,11, 12,13,14)

Die bei den Warmblütern und beim Geflügel obligat parasitierenden Tuberkulosebakterien sind, da sie sich auf Spezialnährböden langsam und nicht unter 30°C, Geflügel-tuberkulosebakterien nicht unter 25°C, vermehren [W i l s o n und M i l l e s (44)], kein Pigment bilden und meist eine typische Koloniemorphologie zeigen, im

allgemeinen von "atypischen" Mykobakterien gut zu unterscheiden. Zur Sicherung der Diagnose stehen Spezialtests wie die Niazinprobe oder der Tierversuch zur Verfügung.

Der groben Differenzierung der Mykobakterien wurde zunächst die Gruppeneinteilung nach Runyon (32) zugrundegelegt, die vorwiegend die unterschiedliche Wachstumsgeschwindigkeit und das Vorhandensein oder Fehlen von Pigment berücksichtigt:

Gruppe I: Photochromogene Mykobakterien

Die Stämme wachsen langsam und ohne Farbstoff im Dunkeln. Nach kurzfristiger Lichteinwirkung bilden sie in 6 bis 24 Stunden ein leuchtend gelbes Pigment.- *M.kansasii*, *M.balnei*.

Gruppe II: Skotochromogene Mykobakterien

Diese langsamwachsenden Stämme bilden im Dunkeln einen orange-gelben Farbstoff und sind biochemisch sehr inaktiv.

Gruppe III: Nonphotochromogene Mykobakterien

Diese Stämme wachsen langsam und farblos. Manche Stämme bilden nach langem Stehen im Licht einen gelben Farbstoff. Dazu gehören *M.avium* und Keime vom Battey-Typ oder "aviumähnliche" Mykobakterien.

Gruppe IV: Schnellwachsende Mykobakterien

Diese Stämme sind als Saprophyten bekannt. Es gibt starke Pigmentbildner unter ihnen. Dazu gehören *M.phlei*, *M.smegmatis*, *M.fortuitum*, *M.thamnopheos*, *M.vaccae*, *M.borstelense*, *M.diernhoferi*, und andere.

Zur näheren Charakterisierung der isolierten Mykobakterien wurden außer den Runyon'schen Kriterien die Temperaturbedürfnisse geprüft und die Koloniemorphologie beachtet.

Abschließend wurden alle Stämme in der Amidreihe nach Bönick (7) geprüft. Dieses biochemische Verfahren

beruht auf der Fähigkeit der Mykobakterien, mit Hilfe bestimmter Amidasen bestimmte Amide zu spalten. Jede Mykobakterienart hat ihre eigene Amidase-Aktivität. Auf diese Weise ist in Verbindung mit den kulturellen Merkmalen eine exakte Bestimmung einer Reihe von Mykobakterienarten möglich.

Amidasetest nach B ö n i c k e (7)

Es wurden hier neun der zehn Carbonsäureamide als Substrate verwendet:

Acetamid, MG= 59, (Merck)	Salicylamid, MG= 137, (Roth, Karlsruhe)
Benzamid, MG= 121, (Merck)	
Harnstoff, MG= 60, (Merck)	Allantoin, MG= 158, (Fluka AG, Buchs SG, Schweiz)
Nicotinamid, MG= 122, (Merck)	Succinamid, MG= 116, (Roth, Karlsruhe)
Pyrazinamid, MG= 123, (Krugmann, Hamburg 11)	Malonamid, MG= 102, (Roth, Karlsruhe)

Die Amide wurden in Aqua dest. in einer Konzentration von 0,00164 molar gelöst und eine halbe Stunde im Dampftopf bei 100°C erhitzt. Acetamid, Harnstoff und Allantoin wurden nicht erhitzt, sondern keimfrei filtriert.

Zur Gewinnung von Bakterienmaterial wurden die zu prüfenden Stämme je nach ihrer Gruppenzugehörigkeit verschieden lange auf Löwenstein-Jensen-Nährboden gezüchtet, die schnellwachsenden Stämme 3 bis 5 Tage, die langsamwachsenden Stämme 2 bis 3 Wochen.

Herstellung der Bakteriensuspension

Die mit einer sterilen Öse vom Nährboden abgehobene, gewogene, homogenisierte und zweimal in der Zentrifuge bei 3000 U/Min. mit steriler physiologischer Kochsalzlösung gewaschene Bakterienmasse wurde mit m/15 Phosphatpuffer pH 7,2 resuspendiert. Die Bakteriendichte betrug 10 mg/ml Pufferlösung. Anschließend wurde je ein Teil Substratlösung zur gleichen Menge Bakteriensuspension pipettiert, alles gut durchmischt und im Brutschrank bei 37°C mindestens 16 Stunden lang gehalten. Nach 16 bis 24 Stunden wurde der beim enzymatischen Abbau der Amide frei werdende Ammoniak mit der Phenol-Hypochlorit-Methode nach

R u s s e l l nachgewiesen. Dazu wurden folgende Reagenzien benötigt:

a. Mangansulfatlösung

0,669 g $MnSO_4$ wurden in 1000 ml Aqua dest. gelöst.

b. Phenolreagenz

Zu 25 g Phenol wurden 10 ml Aqua dest. gegeben, das Ganze kräftig geschüttelt, 54 ml 5n NaOH-Lösung hinzugefügt und so lange geschüttelt, bis das Phenol völlig gelöst war. Mit Aqua dest. wurde auf 100 ml aufgefüllt. Die Lösung wurde in brauner Flasche aufbewahrt.

c. Hypochloritlösung

25 g Chlorkalk wurden mit 300 ml heißem Aqua dest. versetzt, unter Schütteln 135 ml 20%ige wässrige Kaliumkarbonat-Lösung hinzugegeben und das Ganze einige Minuten gekocht. Nach Abkühlung wurde mit Aqua dest. auf 500 ml aufgefüllt und filtriert. Die Lösung wurde in brauner Flasche aufbewahrt.

Durchführung des Ammoniaknachweises:

Zu je 1 ml Bakterien-Amid-Gemisch wurden 0,1 ml $MnSO_4$ -Lösung, 1 ml Phenolreagenz und 0,5 ml Hypochloritlösung gegeben, alles gut durchmischt und 15 bis 20 Minuten auf ungefähr $100^{\circ}C$ im Dampftopf erhitzt. Wenn im Bakterien-Amid-Gemisch Ammoniak enthalten war, trat Blaufärbung ein. Gleichzeitig wurden zur Kontrolle bei jedem Amidasetest die Amide, der Phosphatpuffer und je ein Röhrchen Bakteriensuspension ohne Amide auf das Vorhandensein von Ammoniak geprüft.

B. Untersuchungsergebnisse

1. Isolierung der Mykobakterien

Von insgesamt 356 Kotproben enthielten 95 Proben (= 26,7%) Mykobakterien, 190 Proben (= 53,4%) waren negativ und 71 Proben (= 19,9%) fielen wegen Verunreinigung der Nährböden aus. Die Verunreinigungen kamen überwiegend durch Sporenbildner zustande, in diesen Fällen wurde der Nährboden plötzlich und sehr schnell von einem rostroten schleimigen bis festen Belag überzogen. In einigen Fällen waren Schimmelpilze für die Verunreinigung verantwortlich. In den 95 positiven Proben wurden kulturell 109 Stämme nachgewiesen.

230 der 356 Proben stammten von gesunden Schlachtschweinen. Von diesen 230 Proben enthielten 54 Proben (= 23,5%) Mykobakterien. 63 Stämme konnten kulturell nachgewiesen werden.

126 der 356 Proben kamen von wegen Tuberkulose beanstandeten Schlachtschweinen. Von diesen 126 Proben enthielten 41 Proben (= 32,5%) Mykobakterien. 46 Stämme wurden kulturell nachgewiesen.

Eine Übersicht der Isolierungen gibt Tabelle 1.

Tabelle 1: Nachweis von Mykobakterien in Kotproben von Schweinen

Schlachtschweine	Unter- sucht	Kulturell nachgewiesen	Mykobakt. in	Zahl der isolierten Stämme
Gesunde Tiere	230	54 (= 23,5%)	Proben	63
Wegen Tuberkulose beanstandete Tiere	126	41 (= 32,5%)	Proben	46
Insgesamt	356	95 (= 26,7%)	Proben	109

Tabelle 2 gibt eine Übersicht über Herkunft und Ausfall der Primärkulturen hinsichtlich erstem Auftreten und Zahl der Kolonien.

Tabelle 2: Herkunft und Ergebnisse der Primärkulturen
bei den positiven Proben

Zeichenerklärung: + positiv - negativ
/ verunreinigt
x zahlreiche Kolonien

Lfd. Nr.	Alter der Tiere	Tbk. in	Erstes Wachstum in Tagen	Koloniezahl auf Röhrenchen			
				1	2	3	4
6	6 Mo.	-	14	+5	-	-	-
8	"	-	13	+1	/	/	/
11	"	Kopfly.	9	+4	+1	/	/
14	"	-	8	+1	+2	/	/
15	"	-	12	+4	+2	+2	+1
18	"	-	6	+2	+3	/	/
19	"	-	17	+x	+x	+x	/
24	"	-	9	+1	+1	/	/
26	2 J.	-	9	+2	+1	/	/
27	6 Mo.	-	11	+2	/	/	/
31	"	-	14	+2	-	-	/
33	"	Darmly.	13	+1	-	-	-
36	"	-	10	+3	+1	+1	-
38	"	-	8	+2	+1	/	/
46	"	-	22	+3	+1	/	/
49	"	-	7	+3	+2	+2	+1
51	"	-	17	+2	+2	+1	/
55	"	-	18	+2	-	-	/
61	"	-	23	+4	+1	-	/
62	"	-	12	+4	-	-	/
63	"	-	4	+3	+2	+2	+1
64	"	-	14	+1	+1	-	/
68	"	Darmly.	8	+1	+1	-	/
74	"	-	12	+1	+1	-	/
75	"	Kopfly.	14	+5	+1	-	-
76	"	-	14	+1	+1	+1	-
79	"	-	14	+2	-	-	-
81	"	-	13	+x	+x	+x	/
91	"	Darmly.	13	+1	+1	-	/

Lfd. Nr.	Alter der Tiere	Tbk. in	Erstes Wachstum in Tagen	Koloniezahl auf Röhrchen			
				1	2	3	4
92	6 Mo.	Darmly.	6	+1	+1	-	/
93	"	Darmly.	13	+2	-	-	-
96	"	-	15	+1	-	-	/
97	"	-	12	+2	+2	+1	+1
99	"	Darmly.	19	+2	+1	-	/
100	"	Darmly.	14	+1	/	/	/
101	"	Darmly.	14	+1	+1	+1	+1
103	"	Darmly.	14	+2	-	-	/
106	"	-	11	+1	-	/	/
108	"	-	11	+1	+1	-	-
118	"	Darmly.	18	+2	+1	+1	-
119	"	Darmly.	18	+1	-	-	/
137	"	-	21	+1	/	/	/
138	"	-	13	+1	-	-	/
140	"	-	9	+1	+1	/	/
141	"	-	13	+1	-	-	-
143	"	-	9	+3	+3	+2	+1
148	"	Darmly.	15	+1	+1	-	-
155	"	Darmly.	15	+2	+1	/	/
156	"	Darmly.	22	+5	+4	+3	+3
160	"	Darmly.	15	+2	+1	-	-
161	"	Kopfly., Darmly. Leber	15	+3	+2	+2	+2
163	"	Darmly.	8	+2	+1	+1	+1
165	"	Kopfly.	7	+3	+1	-	-
167	"	-	11	+3	+2	+1	+1
168	"	-	30	+1	+1	-	-
172	"	-	11	+3	+1	+1	+1
186	"	-	8	+2	+2	+1	+1
201	"	-	20	+1	-	-	/
213	"	-	23	+1	-	-	/
214	"	-	12	+1	-	/	/
217	"	Darmly.	11	+4	/	/	/
218	"	Kopfly., Darmly.	11, 19	+3	+3	+1	+1
222	"	Darmly.	19	+1	+1	-	/
223	"	Kopfly., Darmly.	19	+1	-	-	-

Lfd. Nr.	Alter der Tiere	Tbkt. in	Erstes Wachstum in Tagen	Koloniezahl auf Röhrechen			
				1	2	3	4
225	6 Mo.	Kopfly.	15	+ ₂	+ ₁	/	/
230	2 J.	Darmly.	14	+ ₁	+ ₁	-	/
246	6 Mo.	Darmly., Leber	15	+ ₃	+ ₂	+ ₁	-
248	"	Darmly., Leber	30, 40	+ ₂	+ ₁	+ ₁	+ ₁
256	"	-	11	+ ₁	-	-	-
257	"	-	15	+ ₁	+ ₁	-	-
264	"	-	19	+ ₂	-	-	-
273	"	Darmly.	10	+ ₁	/	/	/
275	"	-	15	+ ₁	-	-	-
282	"	Darmly.	8	+ ₃	-	-	/
283	"	Ileocaecally.	15	+ ₁	-	-	/
286	"	Kopfly., Darmly.	15	+ ₂	+ ₁	-	/
287	"	Kopfly.	18	+ ₁	+ ₁	-	/
298	"	Kopfly.	14	+ ₁	-	-	-
299	"	smtl. Darmly.	15	+ ₂	/	/	/
300	"	Kopfly.	6 Wo.	+ ₁	-	-	-
301	"	Leber, Milz	21	+ ₁	+ ₁	-	-
302	"	Ileocaecally., Leber, Milz	21	+ ₁	+ ₁	-	-
312	"	-	6	+ ₂	-	-	-
319	"	-	14	+ ₄	+ ₁	+ ₁	-
330	"	-	17	+ ₃	+ ₂	+ ₁	-
331	"	-	17, 22	+ ₂	+ ₁	+ ₁	+ ₁
332	"	-	17	+ ₁	-	-	/
333	"	-	25	+ ₁	-	-	-
334	2 J.	-	16	+ ₁	/	/	/
337	6 Mo.	-	16, 21	+ ₂	+ ₁	-	-
340	"	-	5	+ ₁	-	-	-
346	"	Darmly.	15	+ ₃	+ ₃	+ ₁	+ ₁
350	"	Kopfly., Darmly., Leber, Milz	5	+ ₅	+ ₂	/	/
353	2 J.	Kopfly.	12	+ ₈	+ ₂	+ ₁	-
356	6 Mo.	-	5 Wo.	+ ₁	/	/	-

Erstes Wachstum wurde
bei 8 Proben zwischen 4 und 7 Tagen festgestellt,
bei 12 Proben nach 8 bis 10 Tagen,
bei 33 Proben nach 11 bis 14 Tagen,
bei 30 Proben nach 15 bis 20 Tagen,
bei 12 Proben nach 21 bis 30 Tagen,
bei 1 Probe nach 31 bis 40 Tagen und
bei 2 Proben nach 6 Wochen.

Für die Differenzierung der Stämme war jedoch nicht die Wachstumsgeschwindigkeit in der Primärkultur, sondern in Subkulturen maßgebend.

Die Zahl der pro Röhrchen gewachsenen Kolonien war im allgemeinen klein und schwankte zwischen 1 bis 4 Kolonien. Nur bei 2 Proben kamen auf allen vier Nährbodenröhrchen zahlreiche Kolonien vor.

Die anfangs meist farblosen, cremefarbenen Kolonien blieben entweder auch mit zunehmendem Wachstum cremefarben, oder sie nahmen allmählich eine gelbliche oder rötliche Farbe an. 2 Stämme, die durch zahlreiche Kolonien auffielen, zeigten von Anfang an ein orangegelbes Pigment. 6 mal wurden aufgrund der unterschiedlichen Farbe einzelner Kolonien Mischkulturen festgestellt.

Die Koloniemorphologie variierte stark. Neben kugeligen, halbkugeligen und unregelmäßig geformten Kolonien kamen glatte und glänzende, rauhe und trockene sowie feuchte und weiche Formen vor.

Die mikroskopische Untersuchung ergab in jedem Fall säurefeste Stäbchen. Sie waren von unterschiedlicher Länge, Breite und Granulierung.

2. Differenzierung

Von den 109 in der Primärkultur kulturell nachgewiesenen Mykobakterienstämmen konnten nach Überimpfung auf Subkulturen 86 Stämme, darunter 8 Stämme aus Mischkulturen, rein gezüchtet und differenziert werden. Davon stammten:

48 Stämme aus Kotproben gesunder Schweine,

38 Stämme aus Kotproben beanstandeter Schweine.

In Tabelle 3 sind die Ergebnisse der Subkultivierungen der von gesunden Schweinen isolierten Mykobakterien zusammengestellt.

Tabelle 4 enthält die Ergebnisse der Mykobakterienstämmen, die aus wegen Tuberkulose gemäßregelten Schweinen isoliert worden waren.

Tabelle 3: Kulturelle Eigenschaften und Amidase-Aktivität der 48 isolierten Mykobakterienstämme von gesunden Schlachtschweinen

Zeichenerklärung: R = raue Wuchsform S = glatte Wuchsform

Stamm Nr.	Wachstum bei			Farbe und Wuchsform	Glycerinagar 37°C-Wachstum	Blytagar 37°C-Wachstum	Photochromogeni- tät	Amidase- Aktivität	Diagnose
	22°C	37°C in Egn.	45°C						
6	+	+5	-	creme, S, schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum
15	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopneus
19	+	+8	-	orange- S, schmierig gelb	+	+	-	2,3,5,6,8	M.vaccae
26	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,6,8	M.thamnopneus
27	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopneus
31	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopneus
36	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopneus
46	+	+5	-	creme, S, schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum
49a	+	+2	+	creme, R, S, weich (spät.rötl.braun)	+	+	-	1,2,3,5,6,7,8,9	M.smegmatis
49b	+	+10	+	eigelb, R, trocken	+	+	-	3,6	M.phlei
51a	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnopneus
51b	+	+5	-	creme, S, schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum
55	+	+5	-	creme, S, schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum

Fortsetzung Tabelle 3:

61	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
62	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
63a	+	+2	+	creme, R, weich (spät.rötl.orange)	+	+	-	1,2,3,5,6,7,9	M.smegmatis
63b	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopheos
64a	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
64b	+	+5	-	creme, S, schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum
74	+	+18	-	creme, R, trocken	+	-	-	1,8	nicht differenzierbar
76	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,8	M.thamnopheos
79a	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnopheos
79b	+	+5	-	creme, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.fortuitum
81	+	+8	-	orange-gelb S, schmierig	+	+	-	1,2,3,5,6,7,9	M.vaccae
96	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
97	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnopheos
106	+	+3	-	creme-grau, R, weich	+	+	-	1,3,5,6	M.dierhoferi
137	+	+17	-	creme, R, trocken	+	-	-	3,8	M.fortuitum (?)
138	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
140	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
143a	+	+5	-	creme, S, feucht	+	+	-	3,6,8	M.fortuitum
143b	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
168	+	+17	-	creme, R, trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
201	+	+10	-	creme, S, schmierig	+	-	-	5,6	Gruppe III

Fortsetzung Tabelle 2:

213	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopheos
256	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnopheos
257	+	+ ₁₅	-	creme,	R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
264	+	+ ₁₆	-	creme,	R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
275	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopheos
319	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	3,5,6,8	M.thamnopheos
330a	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopheos
330b	+	+ ₁₇	-	hellgelb, R, (spät.gelb)	R,	trocken	+	-	-	-	Skotochromogen (M.aque)
331a	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnopheos
331b	+	+ ₁₇	-	creme,	R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
331c	+	+ ₁₇	-	creme,	S,	schmierig	-	-	-	1,3,6,8	M.fortuitum (?)
332	+	+ ₁₇	-	creme,	S,	schmierig	-	-	-	-	Gruppe III
333	+	+ ₁₉	-	creme,	R,	trocken	-	-	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
337	+	+ ₅	-	rosa,	S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnopheos

Tabelle 4: Kulturelle Eigenschaften und Amidase-Aktivität der 38 isolierten Mykobakterienstämmen von wegen Tuberkulose beendeten Schlachtschweinen

Stamm Nr.	Wachstum bei			Farbe und Wuchsform	Amidase- Aktivität			Diagnose
	22°C	37°C in H ₂ O.	45°C		Glycerinagar 37°C-Wachstum	Blutagar 37°C-Wachstum	Photochromogeni- tät	
11	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
33	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
68	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
75a	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
75b	+	+5	-	creme, S, feucht	+	+	-	M.fortuitum
91	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
93	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
99	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
101	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
103	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
118	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
119	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
148	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
155	+	+5	-	rosa, S, feucht	+	+	-	M.thamnophoeos
156	+	+17	-	creme, R, trocken	+	-	-	Nicht differenzier- bar
160	+	+10	-	creme, R, trocken	+	-	-	Gruppe III

Fortsetzung Tabelle 4:

161a	+	+5	+	creme, S,	schmierig	+	+	-	1,3,5,6,8	M.fortuitum
161b	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnophoeos
165	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnophoeos
217	+	+16	-	creme, R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
218a	+	+10	-	creme, R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
218b	+	+10	+	eigelb, R,	trocken	+	+	-	3,6	M.phlei
222	+	+9	-	rosarot, R,	trocken	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnophoeos
223	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnophoeos
230	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	1,3,6,8	M.thamnophoeos
246	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnophoeos
248	+	+15	+	creme, S,	schmierig	+	-	-	5,6	Gruppe III
273	+	+7	+	creme, S,	feucht	+	+	-	5,6	Gruppe III
283	+	+10	-	creme, R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
286a	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	1,3,5,6,8	M.thamnophoeos
286b	+	+15	+	creme, S, (spät. eigelb)	schmierig	+	-	-	5,6	Gruppe III
287	+	+17	-	creme, R,	trocken	-	-	-	-	Nicht differenzierbar
298	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	3,5,6,8	M.thamnophoeos
300	+	+17	+	creme, S,	schmierig (glänzend)	+	-	-	5,6	Gruppe III
301	+	+5	-	rosa, S,	feucht	+	+	-	3,6,8	M.thamnophoeos
302	+	+15	-	creme, R,	trocken	+	+	-	1,3,8	M.fortuitum (?)
353a	+	+10	+	eigelb, R,	trocken	+	+	-	3,6	M.phlei
353b	+	+15	-	creme, R,	trocken	+	+	-	1,3,5,8	M.fortuitum (?)

Von den insgesamt 86 Stämmen zeigten 5 ein so atypisches Verhalten, daß ihre Zuordnung in eine der bekannten Mykobakterien-Species aufgrund der durchgeführten Tests nicht möglich war. Die restlichen Stämme konnten differenziert werden, obwohl berücksichtigt werden muß, daß infolge der Prüfung relativ weniger Eigenschaften die Klassifizierung bei einigen Stämmen nicht restlos gesichert ist. Das gilt vor allem für einige *M. fortuitum* - Stämme, die ein auffallend langsames Wachstum zeigten, im Amidasespektrum sich jedoch typisch verhielten. Aufgrund der großen Ähnlichkeit zwischen *M. fortuitum* und *M. thermophilus* hätten für eine Bestätigung dieser Unterscheidung auch noch weitere Merkmale (z.B. Arylsulfatase) geprüft werden müssen.

Die Differenzierung brachte insgesamt betrachtet folgendes Ergebnis:

Gruppe I	nach Runyon:	kein Stamm
Gruppe II	" " :	1 Stamm
Gruppe III	" " :	7 Stämme
Gruppe IV	" " :	75 Stämme

Die Verteilung dieser Stämme auf die beiden untersuchten Gruppen von Schlachtschweinen ergibt sich aus Tabelle 5.

Tabelle 5: Mykobakteriennachweis im Kot von gesunden
und wegen Tuberkulose beanstandeten
Schlachtschweinen

Mykobakterien	Gesunde Schweine	Tbk.- Schweine
Gruppe I	0	0
Gruppe II	1	0
Gruppe III	2 (1 Stamm 45°C + 1 Stamm 45°C -)	5 (4 Stämme 45°C + 1 Stamm 45°C -)
Gruppe IV:		
M.thamn.	23	22
M.fortuit.	15	7
M.smeg.	2	0
M.vaccae	2	0
M.phlei	1	2
M.diernh.	1	0
Nicht differen- ziert	1	2
Insgesamt	48	38

IV. BESPRECHUNG DER ERGEBNISSE

A. Vorkommen von Mykobakterien im Kot gesunder und wegen Tuberkulose beanstandeter Schlachtschweine

Aus 356 Kotproben konnten in 95 Fällen (= 26,7%) Mykobakterienstämme gezüchtet werden. Dieser Prozentsatz liegt erheblich über den von B e e r w e r t h (3) angegebenen 8 %.

Während B e e r w e r t h (3) in der Mehrzahl der Fälle skotochromogene Mykobakterien feststellte, waren bei den vorliegenden Untersuchungen die schnellwachsenden Stämme der Gruppe IV am häufigsten vertreten (= 87%), und zwar ohne erhebliche Unterschiede bei den gesunden und bei den wegen Tuberkulose beanstandeten Tieren.

In den meisten Fällen wurden die Arten *M.fortuitum* und *M.thamnopheos* gefunden.

Vereinzelte angetroffen wurden *M.phlei*, *M.smegmatis*, *M.vaccae* und *M.diernhoferi*. Die drei letzten Arten wurden nur bei den gesunden Schweinen festgestellt.

Auch der einzige skotochromogene Stamm der Gruppe II stammte aus dem Kot eines gesunden Schweines.

Langsam wachsende Stämme der Gruppe III wurden insgesamt 7 mal isoliert. 5 Stämme entfielen auf die Gruppe der wegen Tuberkulose beanstandeten Tiere, 2 Stämme wurden im Kot gesunder Schweine festgestellt.

Ein Vergleich der beiden Untersuchungsgruppen zeigt folgendes Bild:

Bei den gesunden Schweinen wurden 44 mal schnell wachsende saprophytäre Mykobakterien der Gruppe IV und 3 mal langsam wachsende atypische Mykobakterien gefunden, (1 Stamm der Gruppe II, 2 Stämme der Gruppe III). Bei den wegen Tuberkulose beanstandeten Schweinen wurden 31 mal schnell wachsende Mykobakterien der Gruppe IV und 5 mal langsam wachsende atypische Mykobakterien

der Gruppe III aus dem Kot isoliert.

Die hohen Zahlen der saprophytären Mykobakterien im Kot der Schweine überraschen nicht. Diese säurefesten Saprophyten werden als harmlose Begleit- und Verunreinigungskeime von den Tieren ständig mit dem Futter, Trinkwasser oder aus der Einstreu aufgenommen. Sie sind also auch als ständige Passanten im Kot der Tiere zu finden. Infolge der laufenden oralen Aufnahme durch die Schweine können sie allerdings gelegentlich auch über Schleimhautläsionen in das Gewebe eindringen und in den Lymphknoten tuberkuloseähnliche Veränderungen hervorrufen. S c h l i e s s e r (36,39) hat in 30% der Veränderungen in den Kehlgangslymphknoten solche saprophytären Mykobakterien gefunden, wobei $\frac{2}{3}$ der Keime zu den Arten *M. fortuitum* und *M. phlei* und $\frac{1}{3}$ der Keime zu den skotochromogenen Mykobakterien gehörten.

Nach den bisherigen Kenntnissen gelten die saprophytären Mykobakterien aber als avirulent für den Menschen und die Säugetiere. Sie haben nur fleischhygienische Bedeutung, indem die Tiere wegen der tuberkuloseähnlichen Veränderungen für bedingt tauglich erklärt werden.

Langsam wachsende atypische Mykobakterien wurden insgesamt 8 mal gefunden.

Im Gegensatz zu den Funden von B e e r w e r t h (3) konnte nur 1 mal ein skotochromogener Stamm aus dem Kot gezüchtet werden. Worauf diese Unterschiede in der Häufigkeit der Isolierungsergebnisse zurückzuführen sind, konnte nicht geklärt werden. Auch Keime der Gruppe II sind ubiquitär verbreitet und infolgedessen je nach Häufigkeit des Vorkommens mehr oder weniger im Kot anzutreffen. Sie finden sich gelegentlich auch in Veränderungen der Kehlgangslymphknoten von Schweinen S c h l i e s s e r (36).

Die übrigen 7 atypischen Mykobakterienstämme gehörten in die Gruppe III. Diese Stämme wurden im Rahmen meiner Untersuchungen nicht auf Hühnervirulenz geprüft.

Aus dem Kot wegen Tuberkulose beaufstandeter Schweine wurden 5 Stämme isoliert. Aufgrund der kulturellen Untersuchungen, des Temperaturverhaltens (Wachstum bei 45°C) und des Amidasespektrums kann angenommen werden, daß es sich 3 mal um *M. avium* handelte. 1 weiterer Stamm zeigte bei 45°C nur schwaches Wachstum, was unter Umständen ebenfalls für seine Zuordnung zu *M. avium* sprechen könnte. Diese 4 Stämme wurden aus dem Darminhalt von wegen Tuberkulose beaufstandeten Schweinen isoliert. 1 Stamm aus dieser Gruppe der beaufstandeten Schweine wuchs nicht bei 45°C, wahrscheinlich handelte es sich also um einen sogenannten aviumähnlichen Stamm.

Aus dem Kot gesunder Schweine wurden 2 Stämme der Gruppe III isoliert. Einer davon wuchs bei 45°C schwach (vermutlich *M. avium*), der andere vermehrte sich bei 45°C nicht, er kann zu den "aviumähnlichen" Mykobakterien gerechnet werden.

Ein Vorkommen von *M. avium* oder aviumähnlichen Keimen im Kot der Schweine muß davon herrühren, daß diese Keime in der Umgebung der Schweine vorhanden sind. Je nach Häufigkeit des Vorkommens dieser Keime und je nach Länge des Kontaktes, den die Schweine zu den Keimen haben, kann es dann nach oraler Aufnahme entweder nur zu einer Darmpassage oder unter Umständen zu einer Ansteckung mit lokaler Herdsetzung kommen.

In welchem Maße und in welchem Umfange eine solche Aufnahme von Gruppe III - Stämmen erfolgt, hängt vom regional verschiedenen Vorkommen der Geflügeltuberkulose, der Haltungsweise der Hühner und der Haltungsart der Schweine ab. Auch nach einer Sanierung der Geflügelbestände sind sicher Ansteckungen mit solchen Keimen bei Schweinen zu erwarten. Aviumähnliche Mykobakterien mit fehlender oder mehr oder weniger herabgesetzter Hühnervirulenz sind nach verschiedenen Literaturangaben in der Natur weit verbreitet. Eine Aufnahme der anscheinend ubiquitär verbreiteten Keime, ihre Darmpassage und in Ausnahmefällen auch eine Ansteckung sind daher möglich.

B. Zur Frage des Zusammenhanges zwischen Lymphknotenveränderungen und Ausscheidung im Kot

Im Kot von 230 gesunden Schlachtschweinen wurden 48 (= 20,9%) und im Kot von 126 wegen Tuberkulose beanstandeten Schlachtschweinen 38 (= 30,2%) Mykobakterienstämme festgestellt. Somit zeigte sich ein um 10% häufigeres Vorkommen von Mykobakterien bei den wegen Tuberkulose beanstandeten Tieren. Die Frage ist, ob diese höhere Anzahl von Mykobakterien auf eine echte Ausscheidung nach Haften einer Infektion zurückzuführen ist oder nicht.

Sicher muß mit der Möglichkeit einer Erregerausscheidung im Kot infizierter Tiere gerechnet werden. Ein Vergleich der Ergebnisse beider Versuchsgruppen zeigt jedoch, daß bei den wegen Tuberkulose beanstandeten Tieren im Grunde nur eine relativ geringe höhere Nachweisquote auftrat. Zweifellos handelt es sich deshalb in den meisten Fällen nur um eine Darmpassage oral aufgenommener Mykobakterien.

Ein echter Zusammenhang zwischen den tuberkulösen Veränderungen der Darmlymphknoten und dem Vorkommen atypischer Mykobakterien, vor allem *M. avium*, im Kot scheint nur selten gegeben zu sein.

B e e r w e r t h (3) konnte aus 42 Kotproben von tuberkulösen Schweinen nur 1 mal (d.h. in 2,4%) *M. avium* züchten. Einen weiteren aviären Stamm fand er im Kot eines gesunden Schweines.

In meinen Untersuchungen wurden aus dem Kot von 115 Schweinen mit isolierter Lymphknotentuberkulose 3 mal (d.h. in 2,4%) *M. avium* und 1 mal "aviümähnliche" Mykobakterien (= 0,8%) gezüchtet.

11 Kotproben stammten von Schweinen mit generalisierter Tuberkulose, und darin konnte 1 mal *M. avium* (d.h. in 10%) isoliert werden. Eine Ausscheidung scheint demnach bei Tieren mit generalisierter Tuberkulose erheblich häufiger vorzukommen als bei Tieren mit isolierter Darm-

lymphknotentuberkulose.

Andererseits muß natürlich auch daran gedacht werden, daß im Kot vorkommende Geflügeltuberkulosebakterien lediglich von einer Darmpassage ohne Herdsetzung herühren. Das zeigt einmal der Befund B e e r w e r t h s (3) und zum anderen der Umstand, daß bei meinen Untersuchungen bei Tieren ohne tuberkulöse Veränderungen ebenfalls 2 Gruppe III - Stämme (d.h. in 0,8% der Fälle) gefunden wurden.

Die relative geringe Differenz in der Zahl der positiven Kotbefunde spricht meines Erachtens vor allem auch dafür, daß für die beiden Gruppen von Schlachtschweinen von Hause aus andere Expositions- und Infektionsmöglichkeiten bestanden. Dadurch muß es zwangsläufig auch zu einem häufigeren Auftreten dieser Keime im Kot der exponierten Tiere kommen. Schlechte hygienische Bedingungen, besondere Haltungsweisen oder besonders günstige Kontakte zu tuberkulösen Hühnern werden zwangsläufig zu einer höheren Nachweisrate von Mykobakterien im Darminhalt führen als bei Schweinen, die keine Kontakte zu Hühnern hatten und zum Beispiel bei reiner Stallhaltung aufgezogen wurden.

Zusammenfassend wird aus den vergleichenden Untersuchungen somit geschlossen, daß mit der isolierten Darmlymphknotentuberkulose der Schlachtschweine in der Regel nicht eine gleichzeitige und regelmäßige Ausscheidung der ursächlich beteiligten Mykobakterien verbunden ist. Ein solcher Zusammenhang besteht nach den Befunden nur in sehr seltenen Fällen und wird auf jeden Fall nur von kurzer Dauer sein.

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. 356 Kotproben von Schweinen, die am Schlachthof in München geschlachtet wurden, sind nach der Methode von B e e r w e r t h (3) kulturell auf das Vorhandensein von Mykobakterien untersucht worden. Von 285 auswertbaren Proben enthielten 95 Proben (= 33,3%) Mykobakterien.
2. 86 Stämme konnten weiter differenziert werden.
Davon entfielen:
1 Stamm auf die Gruppe II der skotochromogenen Mykobakterien (= 1,2%),
7 Stämme auf die Gruppe III (= 8,1%),
darunter 4 Stämme vermutlich *M.avium* und 3 Stämme "aviumähnliche" Mykobakterien,
75 Stämme auf die Gruppe IV der schnell wachsenden Mykobakterien (= 87,2%), darunter
3 Stämme von *M.phlei*, 2 Stämme von *M.smegmatis*,
22 Stämme von *M.fortuitum*, 45 Stämme von *M.thamnopheos*,
2 Stämme von *M.vaccae* und 1 Stamm *M.diernhoferi*.
3 Stämme waren nicht näher zu bestimmen.
3. Hinsichtlich des Vorkommens von schnellwachsenden saprophytären Mykobakterien der Gruppe IV konnten keine erheblichen Unterschiede im Kot von gesunden Schweinen und im Kot von wegen Tuberkulose beanstandeten Schweinen festgestellt werden.
4. Bei 45°C wachsende Stämme der Gruppe III (vermutlich *M.avium*) wurden unter 126 Proben von wegen Tuberkulose beanstandeten Schweinen in 4 Fällen gefunden.
In Kotproben von 230 gesunden Schlachtschweinen waren sie in 1 Fall vorhanden.
5. Bei 45°C nicht wachsende Stämme der Gruppe III ("aviumähnliche Mykobakterien") wurden jeweils in 1 Fall nachgewiesen.

6. Die Befunde zeigten, daß die isolierte Darm-lymphknotentuberkulose der Schweine in der Regel nicht mit einer regelmäßigen Ausscheidung der für die Veränderungen verantwortlichen Mykobakterien verbunden ist. Für die etwas höhere Isolierungsrate bei den beanstandeten Schweinen wird in erster Linie eine stärkere Exposition für die Aufnahme von Mykobakterien verantwortlich gemacht.

S U M M A R Y

1. 356 faecal specimens of in Munich slaughtered pigs were examined for mycobacteria by culture. The method of B e e r w e r t h (3) was used for the isolation of mycobacteria. 285 specimens were evaluated. 95 (= 33,3%) of these specimens contained mycobacteria.
2. 86 strains could be classified by means of cultural and biochemical methods:
1 strain belonged to the scotochromogens of Runyon's group II.
7 strains belonged to the group III: 4 strains were characterized as *M. avium*, 3 strains as "avium-like" mycobacteria.
75 strains belonged to Runyon's group IV of rapidly growing mycobacteria: 3 strains of *M. phlei*, 2 strains of *M. smegmatis*, 22 strains of *M. fortuitum*, 45 strains of *M. thermophiles*, 2 strains of *M. vaccae* and 1 strain *M. diernhoferi*.
3 strains could not be classified.
3. As to the occurrence of group IV - strains, there was no remarkable difference between pigs with and without tuberculous lesions of pharyngeal and mesenteric lymphnodes.
4. Strains of group III growing at 45°C (probably *M. avium*) were found in 4 pigs with tuberculosis and in 1 pig without tuberculosis.
5. Strains of group III not growing at 45°C were found one in each group of pigs.
6. It is concluded that tuberculosis of mesenteric lymphnodes in pigs is not combined with a regular occurrence of mycobacteria in faeces. The higher isolation-rate in tuberculous pigs is primarily caused by a more intense exposition for the taking up of mycobacteria.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALBERT, O.H.: Untersuchungen über das Vorkommen von Mykobakterien im Rinderkot und deren Differenzierung.
Vet.med.Diss. Gießen (1956)
2. ARONSON, J.D.: Zit. nach Schliesser (34)
3. BEERWERTH, W.: Die Züchtung von Mykobakterien aus dem Kot der Haustiere und ihre Bedeutung für die Epidemiologie und Bekämpfung der Tuberkulose.
Prax.Pneumol. 21, 189-202, (1967)
4. BERTANI, M.: Beitrag zur Kenntnis der säurefesten, im Kote einiger Wirbeltiere anzutreffenden Bazillen.
Zbl. Bakt. I Orig. 72, 270-273 (1941)
5. BÖNICKE, R.,:
LISBOA, B.P. Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. I. Mitteilung
Zbl.Bakt. I Orig. 175, 403 (1959)
6. BÖNICKE, R.,:
W. DITTMAR,
B.P. LISBOA Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. II. Mitteilung
Zbl.Bakt. I Orig. 177, 380-393 (1960)
7. BÖNICKE, R.: Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. III. Mitteilung
Zbl.Bakt. I.Orig. 178, 186-194 (1960)
8. BÖNICKE, R.: Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mykobakterien. IV. Mitteilung
Zbl.Bakt. I Orig. 179, 209-223 (1960)
9. BÖNICKE, R.: Über das Vorkommen von Acylamidasen in Mycobacterien. V. Mitteilung
Zbl.Bakt. I Orig. 179, 223-230 (1960)
10. BONICKE, R.: Beschreibung der neuen Species Mycobacterium borstelense n.sp.
Zbl.Bakt. I Orig. 196, 535-538 (1965)

11. BONICKE, R.,: Beschreibung der neuen Species
S.E. JUHASZ *Mycobacterium vaccae* n.sp.
Zbl.Bakt. I Orig. 192, 133-135 (1964)
12. BÖNICKE, R.,: *Mycobacterium diernhoferi* n.sp.,
S.E. JUHASZ eine in der Umgebung des Rindes
häufig vorkommende neue Mykobakterium-
Species.
Zbl.Bakt. I Orig. 197, 292-294 (1965)
13. BONICKE, R.: Derzeitiger Stand der Klassifizierung
atypischer Mykobakterien mit bio-
chemischen Methoden.
Z.Tuberk. 127, 13 (1967)
14. BRÜHN, A.: Differenzierung aus dem Rinderkot
isolierter Mykobakterien.
Vet.med.Diss. FU Berlin (1966)
15. EICHBAUM, F.: Zit. nach Schliesser (35)
16. GORDON, Ruth,E.: Zit. nach Schliesser (35)
17. HAAG, F.E.: Zit. nach Schliesser (35)
18. HARTWIGK, H.: Infektionen bei Tieren durch aviäre
Mykobakterien
Prax.Pneumol. 19, 537-543 (1965)
19. HERR, F.: Zit. nach Schliesser (35)
20. HOEBEL, H.: Über die alkohol-säurefesten Stäbchen
des Darmes.
Vet.med.Diss. Bern (1922)
21. KÄPPLER, W.: Diskussionsbemerkung
Zbl.Bakt. I Orig. 184, 56 (1962)
22. KAUKER, E.,: Beitrag zur käsigen Lymphknoten-
K. ZETTL entzündung der Schweine.
Berl.Münch.tierärztl. Wschr. 77, 167 (1964)
23. KOVACS, N.: Nichtklassifizierte Mykobakterien
Zbl.Bakt. I Orig. 184, 46-58 (1962)

24. KUBICA, G.P.,: The isolation of unclassified (atypical)
R.E. PALMER, acid-fast bacilli from soil and water
R.E. BEAM, samples collected in the State of Georgia.
A.L. RIGDON Amer.Rev.Resp.Dis. 84, 135 (1961)
25. MEISSNER, G.: Diskussionsbemerkung
Zbl.Bakt. I Orig. 184, 57 (1962)
26. MEISSNER, G.: Entwicklung und heutige Situation des
Problems der atypischen Mykobakterien.
Z.Tuberk. 127, 3 (1967)
27. MEYN, A.,: Untersuchungen über das Vorkommen
TH. SCHLIESSER von Mykobakterien in den Darmlymph-
knoten von Schlachtschweinen.
Mh. Vet.-Med. 17, 49 (1962)
28. MOELLER, W.: Zit. nach Schliesser (35)
29. NEUBAUER, H.: Untersuchungen über das Vorkommen
von Mykobakterien im Schafkot und
deren Differenzierung.
Vet.med.Diss. Gießen (1953)
30. NORDEN, A.,: Zit. nach Schliesser (34)
F. LINELL
31. OLT, A.: Diskussionsbeitrag auf der Versammlung
des Hamburg-Altonaer Tierärztlichen
Vereins am 4.12.1897.
Ref.Dtsch.tierärztl.Wschr.5,463 (1897)
32. RUNYON, E.H.: The differentiation of anonymous
(atypical) Mycobacteria from mammalian
tubercle bacilli.
Bull.Internat.Un.Tub. 29, 69, (1959)
33. RUNYON, E.H.: Source of Scotochromogens.
Amer.Rev.Tbc. 80, 277-278 (1959)
34. SCHLIESSER, TH.: Infektionen bei Tieren mit "atypi-
schen" Mykobakterien der Gruppen
I,II, und IV nach Runyon.
Prax.Pneumol. 19, 543-550 (1965)

35. SCHLIESSER, TH.: Zur Systematik der saprophytären
Mykobakterien.
Habilitationsschrift München (1960)
36. SCHLIESSER, TH.: Weitere Typendifferenzierungen bei
der isolierten Lymphknotentuberku-
lose des Schweines.
Arch.Lebensmittelhyg. 15, 250 (1964)
37. SCHLIESSER, TH.: Zur Frage der Verbreitung und Be-
deutung der Geflügeltuberkulose.
Wien.Tierärztl.Mschr. 51, 193-203(1964)
38. SCHLIESSER, TH.: Atypische Mykobakterien bei Tieren.
Z.Tuberk. 127, 101 (1967)
39. SCHLIESSER, TH.: Die Tuberkulose des Schweines und
ihre gegenwärtige Bedeutung.
Tierärztl.Umsch. 22, 17-20 (1967)
40. THOMSON, H.M.: Zit. nach Schliesser (35)
41. UNERTL, B.: Untersuchungen über das Vorkommen
von Mykobakterien in Rohmilch.
Vet.med.Diss. München. (1969)
42. URABA, K.: Zit. nach Schliesser (35)
43. WEBER, A.,: Zit. nach Schliesser (35)
TAUTE
44. WILSON, G.S.: Zit. nach Schliesser (35)
MILES, A.A.

Herrn Professor Dr. Th. Schliesser möchte ich für die Überlassung des Themas und die mir jederzeit gewährte Unterstützung herzlich danken.

Herrn Oberveterinärtrat Dr. H. Schneidawind mit Kollegen vom Schlachthof München möchte ich für ihre Anteilnahme und Hilfe meinen besten Dank aussprechen.

L e b e n s l a u f

Am 13. April 1934 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Heinrich Petersen und seiner Ehefrau Margarete, geb. Schmidt, in Flensburg geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule und des Lyceums für Mädchen in Flensburg erhielt ich im Oktober 1961 an der Hohen Landesschule in Hanau das Reifezeugnis. Im Wintersemester 1961/62 begann ich in München mit dem Studium der Tiermedizin, das ich 1966 mit der Tierärztlichen Prüfung abschloß. Meine Praktikantenzeit leistete ich an der Gynäkologischen und Ambulatorischen Tierklinik der Universität München und bei Herrn Dr. Martens, Lübeck, ab. Meine Approbation erhielt ich am 1. November 1967.

